

Periferik Arter Hastalarında Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Kapasite[#]

Cengiz KÖKSAL*, Dildar KONUKOĞLU**, Meltem ERCAN***, Caner ARSLAN*, Kamuran KAZIMOĞLU*, Kürşat BOZKURT*

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul

** Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı*

*** Biyokimya Anabilim Dalı*

**** Biofizik Anabilim Dalı*

Serbest oksijen radikallerinin damar duvarına toksik etkileri ateroskleroza arttırırken, sebep oldukları hemoliz tıkanıklığın distalindeki hipoksiyi daha da arttırır. Çalışmamızda cerrahi revaskularizasyona aday periferik arter hasta ve kontrol gruplarında, plazmada lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit, bir antioksidan olan E vitamini ve antioksidan kapasiteyi gösteren glutatyon'un eritrosit içi düzeylerini karşılaştırmayı hedefledik.

Kontrol (25 birey) ve hasta grubundan (25 birey) alınan 10 ml kan 2000/dk. devirle santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma ve eritrosit içi lipid peroksidasyon düzeyi spektrofotometrik yöntemle, E vitamin düzeyi Qualife ML yöntemiyle, eritrosit GSH düzeyi Beutler ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde ölçüldü. Karşılaştırmalı istatistiksel analizler student-t testi ile yapıldı.

Plazma ve eritrosit içi lipid peroksidasyon düzeyi hasta grubunda kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek, E vitamini ve eritrosit GSH düzeyi anlamlı düşük bulundu.

Çalışmamız sonucunda hasta grubunda ortaya çıkan plazma ve eritrosit içi yüksek lipid peroksidasyon ve düşük E vitamini, eritrosit içi GSH düzeyleri periferik aterosklerotik hastalarda artmış oksidatif stresin yanında antioksidan kapasitenin azaldığını ortaya çıkarmaktadır. Periferik arter hastalarında E vitamini gibi antioksidanların, antioksidan kapasiteyi arttırarak ekstremitelerde hipoksisini azaltacağı ve böylece semptomların hafiflemesini sağlayacağı düşünülebilir.

Anahtar sözcükler: Lipid peroksidasyonu, serbest oksijen radikalleri, E vitamini, periferik damar hastalığı

GKDC Dergisi 1999; 7: 244-246

Lipid Peroxidation and Antioxidant Capacity in Peripheral Vascular Disease

Free oxygen radical contribute to atherosclerosis via toxic effect on vessel wall, as they enhance hypoxia distal to arterial occlusion via hemolysis. In this study, we aimed to compare lipid peroxidant capacity between the control and the atherosclerotic group, which is a candidate for peripheral revascularization.

Blood samples (10 ml) from control and patient groups were centrifuged (2000/min) in order to obtain plasma. Plasma and erythrocyte lipid peroxidation levels were measured using the spectrophotometric method, vitamine E levels by Qualife ML method and erythrocyte GSH levels by the method described by Beutler et al. Statistical evaluation of the results of both groups were effectuated by student's t-test.

Plasma and erythrocyte lipid peroxidation levels were found to be higher and vitamine E and erythrocyte GSH levels, lowen, in the patient group compared to the control group the differences were statistically significant.

The results of our study reveal increased oxidative stress and decreased antioxidant capacity in patients with peripheral vascular disease. In our point of view, antioxinats may help in the relief of symptoms by increasing antioxidant capacity in the peripheral vascular patient group.

Key words: Lipid peroxidation, Free oxygen radicals, vitamine E, peripheral vascular disease

* Bu çalışma 5. Ulusal Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Kongresinde (20-24 Ekim 1998 Antalya) poster olarak sunulmuştur.

Giriş

Serbest oksijen radikalleri; lipid peroksidasyonu, disülfid bağları ile proteinlerin bağlanması, sülfhidril enzimlerin inaktivasyonu ve DNA hasarının induksiyonlanması ile hücrel hasar meydana getirirler. Serbest oksijen radikallerin ortadan kalkması, kendiliğinden veya antioksidanlar (E vitamini, glutatyon, seruloplazmin, transferrin) ve enzimler (süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) tarafından meydana gelen inaktivasyonla olur (1).

Periferik arter hastalıklarında hipoksi sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri ve endojen peroksidler kemotaktik ve sitotoksik özelliklere sahiptirler. Damar duvarı üzerine doğrudan toksik etki yaparak ateroskleroza hızlandırmanın yanında, neden oldukları hemoliz ile de tıkanıklık distalindeki hipoksiyi daha da arttırlar. Çalışmamızda cerrahi revaskülarizasyon aday periferik arter hastalığı mevcut kişiler ve sağlıklı kontrol grubunda plazma ve eritrosit içi lipid peroksidasyonu, bir antioksidan olan E vitamini ve antioksidan kapasiteyi gösteren glutatyonun eritrosit içi düzeylerini karşılaştırmayı hedefledik.

Materyal ve Metod

Periferik arter hasta (PAH) grubunda klinik olarak femoral arter tıkaçıcı hastalığı tespit edilen, femoropopliteal bypass adayı 5'i kadın, 20'si erkek toplam 25 hasta bulunmaktaydı. Yaş ortalaması 54 ± 3.2 idi. Hastaların 5'inde kladukasyon, 12'sinde istirahat ağrısı, 8'inde iskemik ülser mevcuttu. Kontrol grubu klinik olarak aterosklerotik damar hastalığı bulunmayan, yaş ortalaması 32 ± 2.1 , 7'si kadın, 18'i erkek olmak üzere toplam 25 bireyden oluşturuldu. Kontrol grubunda en az bir hafta önceden hastaların trombosit fonksiyonlarında ve hematolojik parametrelerinde değişikliğe sebep olabilecek ilaçlar kesildi. Kan örneği alınmadan önce gece hastalar aç bırakıldı. Li-heparinli tüplere alınan 10 ml. kan 2000/dk. devirle 10 dakika süreyle santrifüje edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma ve eritrosit için lipid

peroksidasyon düzeyi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü ve sonuçlar nmol/ml olarak ifade edildi. E vitamini düzeyleri Qualife ML tarafından tarif edildiği şekilde ölçüldü (2). Plazmadaki proteinler eşit hacimde saf etanol ile presipite edildikten sonra, tüm karışım xylene ayırımına maruz bırakıldı. Üst kattan alınan örneğe a-a dipiryridyl eklendi. Ferrik chloridin eklenmesinden bir buçuk dakika sonra 2. Absorbans 520 nm'de elde edildi. 460 nm'de elde edilen absorbansla plazma E vitamini düzeyi mg/dL olarak ölçüldü. Eritrosit glutatyon (GSH) düzeyi Beutler ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde ölçüldü (3). Değerler mmol/gHb olarak ifade edildi. Karşılaştırmalı istatistiksel analizler student-t testi ile yapıldı. 0.05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Ortalama plazma ve eritrosit lipid peroksid, E vitamini ve eritrosit GSH düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Plazma ve eritrosit içi lipid peroksidasyon düzeyleri karşılaştırıldığında periferik arter hasta grubunda lipid peroksidasyon değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.001$, $p < 0.00$). Plazma E vitamini değerlerinin hasta grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azaldığı bulundu ($p < 0.001$). Bunlara ek olarak eritrosit içi GSH düzeyi de hasta grubunda anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.001$).

Tartışma

Alt ekstremitenin kronik iskemisi aterosklerotik tıkanıklığının yanında oksidatif ve reolojik faktörlerden de etkilenmektedir. Vitamin α -tocoferol biyolojik aktivitesini gösteren tüm oluşumlara verilen jenerik terimdir. Doğada 8 madde E vitamini aktivitesi gösterir. Serbest oksijen radikallerinin iskemik kardiyak patoloji-lerde zararlı faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir. E ve C vitaminlerinin, oluşumlarından hemen sonra

Tablo 1. Periferik arter hasta (PAH) ve kontrol grubunda plazma ve eritrosit içi lipid peroksidasyon, E vitamini, eritrosit GSH düzeyleri.

		Hasta grubu	Kontrol grubu	P değeri
Plazma	MDA (NMOLQ/ML)	5.52±1.089	2.9±0.4	0.001
	Vitamin E (mg/dL)	0.608±0.14	1.2±0.2	0.001
Eritrosit	MDA (nmol/gHb)	313.45±52.08	150±50	0.001
	GSH (mmol/gHb)	6.74±1.55	11.8±0.5	0.001

serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırdıkları bilinmektedir (4). Lipid peroksidasyonu hücresele komponentler en çok zarar veren reaksiyonlardan biridir. Yağı ve ark. lipid peroksidasyonu artışının aterosklerozda bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (5). Dolaşımdaki serbest oksijen radikalleri damar duvara üzerine toksik etki ile mevcut atero-sklerozu arttırırken, eritrosit membran geçirgenliğindeki değişiklikler sonucunda hemolize yol açarlar ve sonuçta hipoksik bölgeye oksijen taşıma kapasitesi azalır. Bu tıkanıklığın distalindeki ekstremitenin beslenmesinin daha da bozulması anlamına gelir. Singh ve ark. antioksidan diyetin (E vit., C vit., karoten) sıçanlarda aterosklerozu engellediğini göstermişlerdir (6). E vitamininin lipid peroksidasyonunu engelleyerek anjiyoplasti sonrası düz kas hücrelerinin artışını azalttığını gösteren deneysel çalışmalar mevcuttur (7).

Sebbag ve ark. MDA düzeyinin yüksek, E vitamin düzeyinin düşük olduğu köpeklerde, koroner iskemi ve reperfüzyon işlemi esnasında aritmi sıklığının yüksek olduğunu ve enfarkt alanının daha büyük olduğunu göstermişlerdir (8). İntermitant kladukasyon şikayeti bulunan 126 hasta ile yapılan çalışmada, eritrosit MDA düzeyi ve hastaların semptomları arasında ilişki saptanmıştır (9). Glutasyon peroksidaz (GSH-PX) iyi bilinen doğal bir antioksidandır (10). GSP-PX, organik peroksitleri indirgenmiş GSH ile elimine eder. GSH-PX toksik hidroperoksitlerin alkol ve suya indirgenmesini GSH'nun GSH disülfid (GSSG) oksidasyonu ile meydana getirir. GSSG tekrar NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir, böylece sağlıklı eritrositler antioksidan sistemler ile oksidatif zarara direnç gösterirler (11). Hemoreolojik bir çalışmada eksojen GSH verilmesinin antioksidan etki yanında kan filtrasyonunu iyileştirdiği ve kan viskozitesini azalttığı gösterilmiş ve GSH tedavisinin aterosklerotik hastalarda önemli bir tedavi

yöntemi olduğu öne sürülmüştür (12). Çalışmamız sonucunda hasta grubunda ortaya çıkan plazma ve eritrosit içi artmış lipid peroksidasyon düzeyi, düşük E vitamini ve eritrosit içi GSH düzeyleri periferik aterosklerotik hastalarda artmış oksidatif stresin yanında, antioksidan kapasitenin azaldığını ortaya çıkarmaktadır. E vitamini gibi antioksidan ajanlarla antioksidan kapasitenin arttırılmasının, periferik arter hastalarında ekstremitenin hipoksisini azaltarak semptomların hafiflemesini sağlayacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Robbins S, Cotran R, Kumar V: Cellular injury and cellula death. In: Jennifer Mitchell (Ed), Pathologic Basis of Disease, WB Saunders Company, 1992, pp.1-35.
2. Qualife ML, Schrimshaw NS, Lowry SH: A micro method for assay of total tocophards in blood serum. J Biol Chem 1949; 180: 1220-1235.
3. Beutler A, Duran O, Kell BM: Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med 1963; 51(5): 882-888.
4. Sisto T, Paajanen H, Metsaketela T, Harmoinen A, Nordback I, Tarkka M: Pretreatment with antioxidants and allopurinol diminishes cardiac onset events in coronary arter bypass grafting. Annals of Thoracic Surgery 1995; 59(6): 1519-1523.
5. Dormandy JA, Hoare E, Colley J, Arrowsmith DE, Dormandy TL: Clinical, hemodynamic, rheological and biochemical findings in 126 patients with intermittant claudication. BMJ 1973; 4: 576-581.
6. Sing RB, Niaz AM, Ghoch S: Randomized, controlled trial of antioxidant vitamins and cardioprotective diet on hyperlipidemia, oxidative stress and development of experimental atherosclerosis. The diet and antioxidant trial on atherosclerosis. Cardiovascular Drugs and Therapy 1995; 9(6): 763-771.
7. Lafont AM, Chai YC, Cornhill JF, Whitlow PL, Howe PH, Chisolm GM: Effect of alfatocopherol on restenosis after angioplasty in a model of experimental atherosclerosis. J Clinical Invest 1998; 95(3): 1018-1025.
8. Sebbag L, Forrat R, Canet E, Renaud S, Delaye J, Delorgeril M: Effects of dietary supplementation with alpha-tocopherol on myocardial infarct size and ventricular arrhythmias in a dog model of ischemia-reperfusion. J Am Cell Cardiology 1994; 24(6): 1580-1585.
9. Yagi K: Increased lipid peroxides initiate atherosclerosis. Bioassays 1984; 1: 58-60.
10. Barber DA, Harris SR: Oxygen free radicals and antioxidants: a review. Am Pharmacy 1994; 34: (9): 26-35.
11. Punchard AS, Taylor JA, Thompson RPH, Peerson TC: Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. Eur J Haematol 1991; 47(4): 287-91.
12. Copola L, Grassia A, Giunta R, Verrazzo G, Cova B, Trille A: Glutathione (GSH) improved haemostatic and haemorheological parameters in atherosclerotic subjects. Drugs Exp Clin Res 1992; 8(11/12): 493-98.

Yazışma adresi: Dr. Cengiz Köksal

P.K. 26, 34304

Cerrahpaşa, İstanbul

Fax: 0 212 632 84 74

Tel: 0 212 632 13 10
